
This is the **published version** of the bachelor thesis:

Alcoverro Godoy, Carmen; Lerma Puertas, Enrique, dir. Estudi de cohorts:
Estudi de l'amplificació 9p24 en cèl·lules tumorals de càncer de mama triple
negatiu com a predictor de mala resposta a la quimioteràpia neoadjuvant. 2020.
(1192 Grau de Medicina)

This version is available at <https://ddd.uab.cat/record/232827>

under the terms of the  license

Estudi de cohorts: Estudi de l'amplificació 9p24 en cèl·lules tumorals de càncer de mama triple negatiu com a predictor de mala resposta a la quimioteràpia neoadjuvant.

TREBALL DE FI DE GRAU EN MEDICINA

CARMEN ALCOVERRO GODOY NIU: 1397059

Tutor: Dr. Enrique Lerma

AGRAÏMENTS

Aquest treball no hagués estat possible sense l'ajuda del meu tutor el Dr. Enrique Lerma. La seva dedicació durant tota aquesta etapa ha estat inspiradora essent la classe de metgessa en que voldria convertir-me. Gràcies per motivar-me i obrir-me els ulls al món de l'anatomia patològica. Als meus pares, gràcies per ensenyar-me l'amor al coneixement, posar-me un llibre a les mans i mostrar-me el món a través dels vostres ulls. Gràcies per donar-me l'educació que a vosaltres se us va privar. A en Javi, fas de la vida una aventura. Gràcies per donar-me la mà mentre descobríem plegats els misteris de la Medicina. T'estimo. A l'Elena, segueixes il·luminant el meu camí.

En la recta final:

“Cottard y Tarrou, que solamente se habían levantado, se quedaron solos ante una imagen de lo que era su vida de aquellos momentos: la peste en el escenario, bajo el aspecto de un histrión desarticulado, y en la sala los restos inútiles del lujo, en forma de abanicos olvidados y encajes desgarrados sobre el rojo de las butacas”

Albert Cammus, La Peste

Índex

Llistat d' Acrònims Utilitzats:	5
Resum:	6
Resumen:	7
Abstract:	8
Antecedents:	9
Generalitats del Càncer de Mama Triple Negatiu (CMT):	9
Immunitat i CMT:	10
JAK 2 i CMT:	10
Amplificació de la Regió 24 del braç curt del Cromosoma 9 (A9p24):	11
Immunoteràpia i teràpia dirigida:	11
Hipòtesis:	13
Objectius:	13
Material i Mètodes:	14
Disseny de l'estudi:	14
Participants:	15
Anàlisis histopatològic i molecular de les mostres:	16
Anàlisis estadístic:	17
Cronograma:	18
Limitacions de l'Estudi:	18
Resultats Esperables:	18

Aplicabilitat:.....	19
Pla de Difusió:	20
Pressupost:	20
Aspectes ètics i Conflictes d'Interès:.....	21
Bibliografia:.....	21
Annexos:	27
Annex 1: Full d'Informació la Pacient.....	27
Annex 2: Autorització Informada Sobre la Gestió de Dades en Investigació Clínica	32
Annex 3: Taula 1. Criteris d'Exclusió.....	34
Annex 4: Taula 2. Dades Basals de les Pacients. Anàlisi multivariant.	35
Annex 5: Taula de Contingència	36
Annex 6: Pressupost MARGenomics	37
Annex 7: Llistat Revistes	38

N n k u v c v " f ø C e t ¼ p k o u " W v k n k v | c v u < "

- < A9p24: Amplificació de la regió 24 del braç curt del cromosoma 9.
- < CM: Càncer de Mama
- < CMTN: Càncer de Mama Triple Negatiu
- < HER2: Receptors del Factor de Creixement Epidèrmic Humà 2
- < IMH: Immunohistoquímica
- < IPCI: Inhibidors de Punts de Control Immuntari
- < OS: Supervivència Global
- < pCR: Resposta Patològica Completa
- < PD-1: Receptor de Mort Cel·lular Programada 1
- < PDL-1: Lligand de Mort Cel·lular Programada 1
- < PDL-2: Lligand de Mort Cel·lular Programada 2
- < PFS: Temps Lliure de Progressió
- < RCB: *Residual Cancer Burden*
- < RE: Receptor d'estrògens
- < RP: Receptor de progesterona
- < TIL: Infiltrat Limfocitari Tumoral

Resum:

Antecedents: El càncer de mama triple negatiu (CMTN) correspon al 15-20% dels càncers de mama diagnosticats. Aquest subtipus tumoral s'associa a un curs clínic més agressiu, edat d'aparició més precoç, major potencial metastàtic i menors taxes de curació. Actualment, les taxes de resposta patològica completa (pCR) a la quimioteràpia neoadjuvant (QTN) en els millors dels casos arriba a un 40%. Per aquest motiu diverses investigacions en els darrers anys s'han centrat a cercar predictors de resposta a la QTN per dirigir millor el tractament. Alguns d'aquests predictors són l'expressió del lligand de mort cel·lular programada 1 (PDL-1) i JAK2, ambdós codificats en la regió 24 del braç curt del cromosoma 9 (9p24). **Hipòtesis:** La presència de l'amplificació de la regió 9p24 (A9p24) en cèl·lules cancerígenes en CMTN en la biòpsia diagnòstica, s'associa a una menor pCR després del tractament neoadjuvant convencional. **Material i Mètodes:** Es proposa un estudi observacional de cohorts, prospectiu i multicèntric amb gestió de dades a l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP). Les pacients diagnosticades de CMTN es dividiran en dues cohorts en funció de la presència o no de l'A9p24. Totes elles rebran el següent tractament neoadjuvant: Antraciclina i taxans, esquema ECx4 cicles, seguit de Paclitaxel setmanal x12. Un cop finalitzat, es procedirà a l'estudi anatomopatològic de mastectomia/tumorectomia per valorar la pCR. Per avaluar l'associació entre A9p24 i pCR, realitzarem una anàlisi univariant aplicant la prova exacta de Fisher per calcular els valors de p ($<0,05$). Es calcula una mida mostral de 184 i una duració aproximada de dos anys. **Resultats Esperables:** Esperem que els resultats confirmen la nostra hipòtesi primària i que la presència de l'A9p24 disminueixi les taxes de pCR després de la QTN. **Paraules clau:** Càncer de mama triple negatiu, anatomia patològica, amplificació 9p24, tractament neoadjuvant, PDL-1 i JAK2.

Resumen:

Antecedentes: El cáncer de mama triple negativo (CMTN) corresponde al 15-20% de los cáncer de mama diagnosticados. Este subtipo tumoral se asocia a un curso clínico más agresivo, edad de aparición más precoz, mayor potencial metastásico y menores tasas de curación. Actualmente, las tasas de respuesta patológica completa (pCR) a la quimioterapia neoadyuvante (QTN) en el mejor de los casos llega a un 40%. Por este motivo varias investigaciones en los últimos años se han centrado en buscar predictores de respuesta a la QTN para dirigir mejor el tratamiento. Algunos de estos predictores son la expresión del ligando de muerte celular programada 1 (PDL-1) y JAK2, ambos codificados en la región 24 del brazo corto del cromosoma 9 (9p24). **Hipótesis:** La presencia de la amplificación de la región 9p24 (A9p24) en células cancerígenas de CMTN en la biopsia diagnóstica, se asocia a una menor pCR después del tratamiento neoadyuvante convencional. **Material y Métodos:** Se propone un estudio observacional de cohortes, prospectivo y multicéntrico con gestión de datos en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP). Las pacientes diagnosticadas de CMTN se dividirán en dos cohortes en función de la presencia o no de la A9p24. Todas ellas recibirán el siguiente tratamiento neoadyuvante: antraciclinas y taxanos, esquema ECx4 ciclos, seguido de Paclitaxel semanal x12. Se realizará el estudio anatomopatológico de mastectomía/tumorectomía para valorar la pCR. Para evaluar la asociación entre A9p24 y PCR, realizaremos un análisis univariante aplicando la prueba exacta de Fisher para calcular los valores de p ($<0,05$). Se calcula un tamaño muestral de 184 y una duración aproximada de dos años. **Resultados esperables:** Esperamos que los resultados confirmen nuestra hipótesis primaria y que la presencia del A9p24 disminuya las tasas de PCR tras la QTN. **Palabras clave:** Cáncer de Mama Triple negativo, anatomía patológica, amplificación 9p24, tratamiento neoadyuvante, PDL-1 i JAK2

Abstract:

Background: Triple negative breast cancer (TNBC) accounts for 15-20% of breast cancers. This tumor subtype is associated with a more aggressive clinical course, earlier age of onset, higher metastatic potential and lower cure rates. Currently, the rates of pathological complete response (pCR) to neoadjuvant chemotherapy (NCT) at best reach 40%. For this reason, several studies in recent years have focused on looking for predictors of NCT response to improve treatment targeting. Some of these predictors are the expression of the programmed cell death ligand 1 (PDL-1) and JAK2, both encoded in region 24 of the short arm of chromosome 9 (9p24). **Hypothesis:** The presence of the amplification of 9p24 region (A9p24) in cancer cells of TNBC at diagnostic biopsy, is associated with lower pCR rates after conventional neoadjuvant treatment. **Methods:** A multicenter cohort study with data management at the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP) is proposed to prove the hypothesis. Patients diagnosed with TNBC will be divided into two cohorts depending on the presence of A9p24 detected by microarray. All of them will receive the following neoadjuvant treatment: Anthracyclines and taxanes (ECx4 cycle regiment), followed by weekly Paclitaxel x12. Once completed, pathological examination of surgical sample will be performed to assess pCR. To evaluate the association between A9p24 and pCR, we will perform a univariate analysis using Fisher's exact test to calculate p values (<0.05). A sample size of 184 will be needed and an approximate duration of two years is expected. **Expected results:** We expect the results confirm our primary hypothesis and that the presence of A9p24 decreases pCR rates after QTN. **Key words:** Triple negative breast cancer, anatomical pathology, 9p24 amplification, neoadjuvant treatment, PDL-1 and JAK2

Antecedents:**Generalitats del Càncer de Mama Triple Negatiu (CMTN):**

El càncer de mama (CM) és el tumor maligne més comú i la segona causa de mortalitat per càncer en dones. A Espanya, el nombre estimat de nous casos i morts per CM en el transcurs del 2019 és d'aproximadament 32.536 i 6.486 dones respectivament (1,2). La incidència del CM segueix una distribució bimodal. El primer pic d'incidència es dona en pacients en la cinquena dècada de vida, premenopàusiques, subtipus tumorals agressius i sense receptors hormonals; el segon pic, correspon a dones postmenopàusiques entre els 55-65 anys amb subtipus tumorals de bon pronòstic i amb receptors hormonals positius (3). El CMTN correspon al 15-20% dels casos diagnosticats de CM (4). Aquests es caracteritzen mitjançant immunohistoquímica (IMH) per receptors d'estrògens (RE), receptors de progesterona (RP) i receptors del factor de creixement epidèrmic humà 2 (HER2) negatius. Comparat amb els CM luminal A, luminal B i Her2+, els CMTN tenen un curs clínic més agressiu, edat d'aparició més precoç, major potencial metastàtic i menors taxes de curació (menor supervivència global (OS) i menor temps lliure de progressió (PFS)(4,5).

Aquelles pacients diagnosticades de CMTN sense metàstasis, tumors a partir de T2 i/o afectació ganglionar (<N3+), poden beneficiar-se de l'ús de quimioteràpia neoadjuvant (QTN)(6). En aquestes pacients, la QTN basada en antraciclins, taxans i platins, pot arribar a aconseguir un 30-40% de resposta patològica completa (pCR) generalment associada a un bon pronòstic (6). La pCR es considera una variable subrogada vàlida d'OS i PFS, essent el factor més estudiat per avaluar la resposta a la neoadjuvència (7).

Immunitat i CMT:

La teoria de la immunovigilància postula que els tumors evolucionen i progressen només quan la resposta immune antitumoral falla (8). En els últims anys s'ha evidenciat que el sistema immune és crític en l'evolució i pronòstic del CMTN. Actualment, els CMTN es classifiquen en funció del seu infiltrat limfocitari tumoral (TILs), uns TILs>50% (TILs+) al diagnòstic s'associen a major supervivència i millor resposta a l'adjuvència en pacients no metastàtiques (9,10). Sense considerar l'estadiatge, els TILs són l'únic predictor independent de pCR en CMTN (8,11).

Existeixen diverses vies inhibidores que serveixen per regular l'activació i la funció de les cèl·lules T. Dins d'aquestes vies s'inclou la regulada per PD-L1 (Lligand de Mort Cel·lular Programada 1) i PD-L2 (Lligand de Mort Cel·lular Programada 2). El PD-1 és un dels receptors de control immunitari inhibidors més estudiats i es troba expressat en el subconjunt de limfòcits B, cèl·lules NK i limfòcits T activats. L'exposició a un antigen de forma crònica, com passa en el càncer, condueix a l'expressió d'alts nivells de PD-1 i posterior inducció d'anergia limfocitària permetent l'evasió immune que limiten la durada i la intensitat de la resposta immunitària de les cèl·lules T (11). S'ha registrat un augment de l'expressió d'aquests lligands en tumors sòlids humans com el CMTN, glioblastomes i carcinomes de còlon, proposant-se aquesta via un punt clau en el procés d'invasió (11). El CMTN és el subgrup de CM amb major expressió PD-L1, suggerint que utilitzen aquesta via per evadir la immunovigilància (11).

JAK 2 i CMT:

La via de senyalització JAK2-STAT inclou quatre dominis proteics de JAK (JAK1, JAK2, JAK3 i la tirosina quinasa 2) i set proteïnes STAT (12). La desregulació d'aquesta

via s'ha vist implicada en la promoció del fenotip oncogènic, incloent-hi tumorigènesis, invasió, metàstasis, proliferació, supervivència, angiogènesis i evasió immune (13).

Amplificació de la Regió 24 del braç curt del Cromosoma 9 (A9p24):

Les dues vies anteriorment explicades es codifiquen en regions molt pròximes dins el genoma, concretament en la regió 9p24. Aquesta regió codifica per PDL-1, PDL-2 i JAK 2, i s'ha proposat que l'amplificació d'aquest segment (A9p24) com un dels factors que faciliten la invasió tumoral i la resistència a la quimioteràpia. Aquesta hipòtesi se suporta per un increment de la freqüència de la mutació en carcinomes invasius de CMTN respecte als CMTN *in situ* (10). De la mateixa manera, altres estudis han demostrat un increment del nombre d'aberracions numèriques d'aquest clúster en CMTN metastàtic amb múltiples línies de tractament quimioteràpic (14).

Immunoteràpia i teràpia dirigida:

La immunoteràpia ha emergit com una modalitat de tractament prometedora per el CMTN. Estudis inicials mostren resultats encoratjadors per aquestes teràpies en CMTN metastàtic candidats a QTN (14).

Via PDL-1/PD-1: En els darrers anys hi ha hagut un interès creixent en el paper que juga el sistema immunitari en la progressió del CM. Inicialment, el CM es considerava no immunogènic. No obstant, investigacions recents ha demostrat un paper pronòstic rellevant del sistema immunitari en l'evolució del CM i han obert el camí per a la futura integració de la immunoteràpia en l'arsenal terapèutic estàndard (15).

En el CM, els TILs-PD1+ estan associats a una pitjor supervivència global (OS). En els darrers deu anys, s'han realitzat més de 290 assaigs clínics amb inhibidors de punts de control immunitari (IPCI) en CM (16). La majoria d'aquests assaigs (76%) s'han centrat

a avaluar immunomoduladors dirigits a cèl·lules T, predominantment anti-PD-1 i/o anti-PD-L1. En monoteràpia aquests immunomoduladors no han demostrat un clar benefici (16). Donat que per l'activació tumoral del sistema immunitari es requereix l'alliberament d'antígens tumorals i posterior reconeixement pel sistema immune, es va hipotetitzar que la falta de resposta a la teràpia dirigida a PD-1 o PD-L1 en monoteràpia era degut a defectes en els primers passos de la presentació d'antígens tumorals. Per aquest motiu, es van iniciar assajos d'IPCI en combinació amb quimioteràpia induint la lisis tumoral i l'alliberament d'antígens tumorals (16). Fins a la data, només uns quants estudis han publicat les seves dades però amb resultats esperançadors. En l'assaig pivotal de fase 3 Impassion130, 902 pacients amb CMTN metastàtic van ser assignats aleatòriament a atezolizumab + nab-paclitaxel vs. placebo + nab-paclitaxel com a teràpia de primera línia. Els pacients amb PD-L1 positiu, van mostrar un PFS (7.5 vs. 5,0 mesos, HR 0,62) i OS (25,0 vs. 15,5 mesos, HR 0,62) significativament superior respecte pacients PD-L1 negatius, sense identificar un augment dels efectes adversos en el tractament combinat. En conjunt, aquest assaig suposa un avenç important en el futur tractament del CMTN i, juntament amb altres assaigs en curs, establirà la utilitat clínica de bloquejadors anti-PD1 com a teràpia combinada de primera línia per a CMTN metastàtic (16).

Tanmateix, la utilitat del bloqueig de PD-1/PD-L1 pel CMTN en neoadjuvència està en investigació. Les primeres dades de l'assaig I-SPY van revelar que l'addició de pembrolizumab a paclitaxel en neoadjuvència obtenia pCR del 60% (vs 20%) en CMTN (16).

Via JAK/STAT en CM: Mutacions en proteïnes JAK/STAT s'han caracteritzat àmpliament en trastorns mieloproliferatius, però no s'han estudiat a fons en el càncer de mama. Estudis preclítics han demostrat que la via IL-6/JAK2/STAT3 està activada en l'11% de CMTN i que la paninhibició de JAK dificulta el creixement de xenoempelts

tumorals derivat de pacients (12). El ruxolitinib és un inhibidor de JAK1/JAK2 aprovat pel tractament de la mielofibrosi. En pacients amb CMTN pSTAT3-positiu, s'han realitzat assaigs de fase II amb ruxolitinib en monoteràpia (17) i en combinació amb capecitabina (18). En l'assaig en monoteràpia, el ruxolitinib no va assolir una resposta objectiva; i en combinació amb capecitabina, no va millorar l'OS ni la PFS en comparació amb el placebo+capecitabina. Així doncs, encara no s'ha demostrat benefici en la inhibició d'aquesta via exclusivament en CMTN

Hipòtesis:

Hipòtesi primària: La presència de l'A9p24 en cèl·lules cancerígenes en CMTN en la biòpsia diagnòstica, s'associa a una menor pCR després del tractament neoadjuvant convencional.

Hipòtesis secundàries:

1. La presència de l'A9p24 en cèl·lules de CMTN s'associa a menor proporció de limfòcits T CD8+ i FOXP3+ en la biòpsia diagnòstica en aquelles mostres TILs+.
2. L'A9p24 es pot trobar *de novo* en la mastectomia o tumorectomia post-neoadjuvència en pacients amb CMTN amb biòpsia inicial sense aquesta amplificació i seria una causa per no aconseguir la pCR.

Objectius:

Objectiu primari: Pretén demostrar que la presència de l'A9p24 en cèl·lules de CMTN s'associa a una menor resposta QTN. Aquest objectiu pretén millorar l'estratificació del risc d'aquestes pacients i, en un futur, poder ser candidates a tractaments dirigits contra PDL-1 i/o JAK2. La resposta s'avaluarà mitjançant la pCR utilitzant la *Residual Cancer Burden Calculator (RCB) del MD Anderson Cancer Center* (19).

Objectius secundaris:

1. En l'estratificació del risc de les pacients CMTN es valora la presència de TILs sense valorar subtipus limfocitaris pronòstics, tot i que es coneix que la presència de FOXP3 i CD8+ s'associen a una millor pCR a la neoadjuvència. Aquest objectiu pretén objectivar que la presència de l'A9p24 redueix la presència de subtipus limfocitaris FOXP3+ i CD8+, i així, fer un pas més per entendre la complexitat del microambient tumoral.
2. El segon objectiu secundari valorarà aquelles pacients que, en el moment del diagnòstic, tenien l'A9p24 negativa però, que després del cicle convencional de neoadjuvència, no aconsegueixen pCR. Es pretén objectivar que aquesta mutació apareix *de novo* després del tractament neoadjuvant com possible font de resistència a la QTN.

Material i Mètodes:

F k u u g p { " f g " n ø g u v w f k < "

Es proposa un estudi observacional de cohorts amb reclutament prospectiu multicèntric. Els centres hospitalaris escollits seran HSCSP, l'Hospital Parc Taulí, l'Hospital Vall d'Hebron i l'Hospital Germans Tries i Pujol; tots quatre hospitals universitaris de la UAB. L'anàlisi de dades estarà centralitzat a l'HSCSP. Un total de 184 pacients diagnosticades histològicament de CMTN candidates a QTN haurien de signar el consentiment (annex 1,2). Seguidament, es procedirà a realitzar un anàlisi addicional a les mostres biològiques fetes servir pel diagnòstic. Mitjançant la realització d'un microarray amb l'eina Cytoscan®750K, dut a terme al MARGenomics del Parc Salut Mar, es classificaran les pacients en funció de la presència o no de l'A9p24. Paral·lelament es recolliran altres

dades d'interès: Presència de TILs i, en el cas de ser positiva, observar la proporció CD4+/CD8+ i presència de FOXP3. Totes les pacients rebran la quimioteràpia neoadjuvant segons els protocols estandarditzats (6, 20): Antraciclins i taxans, esquema ECx4 cicles, seguit de Paclitaxel setmanal x12. Un cop realitzats els cicles corresponents, les pacients se sotmetran al tractament quirúrgic més adient (6, 20). Les peces quirúrgiques (mastectomia/tumorectomia +/- cadena ganglionar) seran processades al laboratori d'anatomia patològica dels hospitals participants i, mitjançant la *RCB del MD Anderson Cancer Center* (19), es determinarà si ha estat possible o no la pCR. Addicionalment, en les mostres quirúrgiques d'aquelles pacients que no presentaven l'A9p24 al diagnòstic i que no obtinguin la pCR, es tornarà a realitzar un Cytoscan®750K, a MARGenomics, per observar si apareixia *de novo* l'amplificació. Finalment, es durà a terme la gestió de dades, anàlisi dels resultats i interpretació de resultats.

Participants:

S'inclouran dins de l'estudi a totes aquelles dones d'edat superior a 18 anys diagnosticades de CMTN que compleixin les següents característiques: 1) Pacients que hagin signat el consentiment informat pel maneig de les seves dades personals (annex 2). 2) El diagnòstic haurà d'incloure confirmació IMH (RE-,RP- i HER2-) i realització de FISH-Her2 si precisa segons l'evidència científica actual. 3) Pacients que siguin candidates a tractament neoadjuvant segons l'*ESMO* (20). Es consideren candidats a neoadjuvència els CMTN que compleixin les següents característiques: Tumors ≥ 20 mm ($\geq T2$) i/o afectació ganglionar ($< N3$), sense malaltia metastàtica (M0). No són candidats a neoadjuvència els CMTN adenoide quístic, metaplàsics i inflamatoris (6). 4) Pacients que rebin tractament neoadjuvant complet (20).

S'exclouran les pacients que compleixin alguna de les característiques exposades a l'annex 3. A mode resum, les pacients excloses seran aquelles amb malaltia metastàtica (M1 i/o N3), evidència d'immunodeficiència o malaltia immunitària i pacients diagnosticades de neoplàsies malignes en els darrers cinc anys.

Anàlisi histopatològic i molecular de les mostres:

El diagnòstic histopatològic de CMTN es realitzarà d'acord les recomanacions actuals (20, 21, 22). Dins el protocol es preveu la utilització de la IMH, aquesta mesura l'expressió proteica utilitzant anticossos específics marcats que s'uneixen a les proteïnes d'interès (22). Aquesta tècnica serà l'escollida per avaluar la presència de cèl·lules FOXP3+, CD4+, CD8+ i PD-1 + en el microambient tumoral. Seguidament s'avaluarà el percentatge de TILs, s'estudiarà una secció del tumor tenyida amb hematoxilina-eosina (HE) seguint els criteris descrits per Salgado et al. (23). El percentatge considerat com a TIL+ en el nostre estudi serà del $\geq 50\%$, donada la millor correlació interobservador que presenta aquesta xifra (8).

La tècnica escollida per detectar l'increment en el nombre de còpies de la regió 9p24 serà el microarray (Cytoscan®750K). Donat que als hospitals participants no està disponible, serà realitzat pels especialistes de MARGenomics al Parc de Salut Mar. El microarray s'utilitza per detectar l'increment o la pèrdua de còpies d'un segment de DNA (24). Les sondes utilitzades i la sensibilitat poden ser consultades a la fitxa tècnica (25).

Per avaluar la pCR s'utilitzarà la *Residual Cancer Burden Calculator del MD Anderson Cancer Center* (19). Aquesta eina calcula automàticament el RCB amb les dades obtingudes del tumor primari en la mastectomia/tumorectomia i les metàstasis limfàtiques (19). Considerarem pCR si l'eina ens dona aquest resultat, per altra banda, si s'obté RCB I, II o III es considerarà com a resposta patològica no completa.

Anàlisi estadístic:

Per calcular la mida mostral es va utilitzar la calculadora GRANMO. Acceptant un risc alfa de 0.05 i un risc beta inferior al 0.2 en un contrast bilateral, calen 123 pacients sense l'A9p24 (grup 1) i 61 pacients amb l'A9p24 present (grup 2) per detectar com estadísticament significatiu la diferència entre dues proporcions, que pel grup 1 s'espera sigui de 0.40 i pel grup 2 de 0.2 (26). S'ha estimat una taxa de pèrdues de seguiment del 2%.

L'anàlisi de dades es realitzarà mitjançant STATA. Inicialment, es descriuran les característiques basals dels pacients. Les variables contínues es reportaran com a mitjanes amb desviacions estàndard o medianes amb rang interquartílic. Les variables categòriques com a proporcions.

En segon lloc, pel que fa a la hipòtesi primària, determinarem el percentatge de pacients amb pCR després del tractament neoadjuvant entre dos grups de pacients: aquelles amb A9p24 i aquelles sense. Per avaluar la possible associació entre A924 i pCR, realitzarem una anàlisi univariant aplicant la prova exacta de Fisher per calcular els valors de p. El nivell de significació serà $p < 0,05$. Per identificar possibles factors de confusió en l'anàlisi anterior, realitzarem una anàlisi de regressió logística multivariant ajustat per diferents variables (edat, IMC, TILs, tabaquisme...). Es calcularà l'Odds Ratio (OR) amb intervals de confiança del 95% (IC del 95%); i el nivell de significació per p serà $p < 0,05$.

En tercer lloc, realitzarem un anàlisi IMH a totes les mostres que presentin TIL+ que inclourà proporció CD4+/CD8+, Ki67 i FOXP3. Aquestes mostres es dividiran en funció de la presència de A9p24 per buscar possibles diferències en la conformació del microambient tumoral d'aquestes pacients. Es calcularà l'Odds Ratio (OR) amb intervals de confiança del 95% (IC del 95%); i el nivell de significació per p serà $p < 0,05$.

Finalment, en el subgrup de pacients amb A9p24 inicial negativa i que no han aconseguit la pCR, quantificarem la proporció de mostres que presenten l'A9p24 després del tractament neoadjuvant per tal de descriure possibles relacions.

Cronograma:

ACTIVITATS	Mes	1			3			5			7			9			11			13			15			17			19			21			23													
	Setmanes	1	2	3	4	9	10	11	12	17	18	19	20	25	26	27	28	33	34	35	36	41	42	43	44	49	50	51	52	57	58	59	60	65	66	67	68	73	74	75	76	81	82	83	84	89	90	91
Reclutament																																																
Tractament Neoadjuvant																																																
Anàlisi de dades																																																
Publicació Resultats																																																

N k o k v c e k q p u " f g " n ø G u v w f k < "

La principal limitació de l'estudi és l'ús d'una variable subrogada, pCR, com a *end point*.

Està ben estudiat que, en la major part de les pacients, assolir la pCR millora la supervivència, tot i això, no podem assegurar que l'A9p24 incrementi l'OS.

Resultats Esperables:

En l'annex 4 veiem esquematitzada la distribució de les pacients en els grups A9p24 positiva y negativa segons les seves característiques basals, incloent-se les característiques de la biòpsia. Esperem que els resultats siguin favorables a la nostra hipòtesis primària i que la presència de l'A9p24 disminueixi les taxes de pCR després de la QTN. La disminució esperada de la taxa de pCR s'espera que sigui d'un 15%, concretament es calcula que sigui d'un 20% al grup amb l'amplificació detectada i d'un 35% al grup 9p24 *wild tipe*. Aquest percentatge es calcularà amb l'ajuda d'una taula de contingència (taula 3), finalment, per avaluar les possible associació entre A9p24 i pCR, realitzarem una anàlisi univariant aplicant la prova exacta de Fisher per calcular els valors de p, el resultat de la qual s'espera que sigui $p < 0,05$. S'espera que no es trobin factors de

confusió, per demostrar-ho es realitzarà un anàlisis multivariant calculant la *Odds Ratio* amb un IC 95% i $p < 0,05$. Deduïm que no es trobaran altres factors que puguin explicar de forma alternativa els resultats de la hipòtesis primària, confirmant així que la presència de l'A9p24 disminueix l'efectivitat del tractament neoadjuvant. Sempre tenint en compte les limitacions de l'estudi, es podria definir l'A9p24 com a factor de mal pronòstic en pacients amb CMTN i podrien ser, segons la bibliografia consultada, candidates a tractaments amb inhibidors de PDL-1 i JAK2 en neoadjuvència, sempre que futurs assajos clínics demostrin beneficis en aquest grup de pacients (14).

Respecte a les hipòtesis secundàries, creiem que el nostre estudi arribarà als mateixos resultats que els trobats en la bibliografia. En primer lloc, esperem trobar la mutació A9p24 *de novo* en aquelles pacients que en la biòpsia inicial no es va trobar i que no varen aconseguir la pCR. Aquest resultat esperable se sustenta per múltiples estudis, on aquesta mutació es troba més present en pacients amb múltiples línies de tractament quimioteràpic i també s'observa més en carcinoma invasiu que en els *in situ* (7, 8, 17). En segon lloc, es preveu una disminució significativa de limfòcits FOXP3+ i CD8+ en aquelles pacients amb l'A9p24 present i TILs+ respecte a les pacients 9p24 *wild type*.

Aplicabilitat:

En el moment actual hi ha múltiples assajos clínics que intenten aportar nous tractaments a les pacients amb CMTN (14). Demostrar que l'A9p24 disminueix les taxes de pCR obriria la porta investigar si els inhibidors de PDL-1 i JAK-2 són beneficiosos en aquest subgrup de pacients. Per fer això possible es necessita demostrar que aquesta mutació és vàlida per predir una pitjor resposta al tractament neoadjuvant (objectiu d'aquest treball de fi de grau), i seguidament, realitzar assajos clínics. El principal inconvenient és que el microarray no es duu a terme de forma rutinària en els hospitals i el cost de realitzar-lo

és elevat. Altres tècniques com la FISH o la HCG podrien ser vàlides per detectar l'amplificació, però la seva sensibilitat és marcadament inferior al microarray.

Pla de Difusió:

Considerant que es coneixen pocs predictors de la resposta a la QTN en pacients amb CMTN, i que els resultats obren la porta a fer assajos clínics amb immunoteràpia i teràpia dirigida, considerem que s'ha d'intentar publicar en mínim dues revistes d'alt impacte. Per triar la revista idònia s'utilitzarà l'eina *Journal Citation Reports (JCR)*, farem servir les paraules clau “*oncology*”, “i “*pathology*”. S'admet qualsevol edició, categoria i país, però limitem la cerca a l'últim any disponible en el registre (2018) amb *impact factor* superior a 6. En total l'aplicació mostra 19 revistes de les quals seleccionarem les 10 que millor s'ajusten a les característiques de l'estudi. Entre elles trobem: *Seminars in Cancer Biology*, *Clinical Cancer Research* i *Trends in Cancer*, la llista completa (annex 5). Inclourem l'article a bases de dades com *MEDLINE* amb accés gratuït des de *Pubmed*. En acabar, es presentarà el treball en format pòster a congressos internacionals, com l'*ASCO* i la *IAT*, i nacionals, com el *Congreso de la SEAP*.

Pressupost:

L'estudi proposat consta de procediments ja inclosos en el protocol habitual del maneig de CMTN afegint l'anàlisi de microarray. El pressupost de MARgenòmics per realitzar el microarray 321€/mostra, calculant-se un total de 250 mostres a analitzar ascendeix el 80.250€ (annex 6). Així mateix, l'equip de recerca estarà format pel servei d'anatomia patològica dels hospitals participants.

Aspectes ètics k " E q p h n k e :v g u " f ø K p v g t 3 u

La realització de l'estudi està basada en el principi de no maleficència. Les proves a realitzar són a la biòpsia diagnòstica i la tumorectomia/mastectomia, totes dues incloses en el protocol habitual pel tractament del CMTN. El dret d'autonomia de la pacient està conservat mitjançant la firma del consentiment informat. La gestió de les dades estarà regulada segons llei orgànica 3/2018, de 5 desembre, de protecció de dades personals i garantia de dels drets digital.

D'acord amb la Llei 41/2002, de 14 de novembre, bàsica reguladora de l'autonomia del pacient i de drets i obligacions en matèria d'informació i documentació clínica, s'exigeix la signatura del consentiment informat, posterior a la lectura comprensiva del full d'informació al pacient, per a poder participar en aquest estudi. Tanmateix s'informa al pacient del seu dret a no participar o bé revocar el seu consentiment en qualsevol moment, sense que això afecti l'atenció mèdica rebuda.

L'autora declara que no hi ha cap conflicte d'interès que interfereixi en la realització de l'estudi.

Bibliografia:

1. Las cifras del cáncer en España [Internet]. 2019. Available from: www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-epidemiologia-am-
2. Càncer de Mama 2017 [Internet]. Generalitat de Catalunya, Departament de Salut. 2018. Available from: <https://canalsalut.gencat.cat/ca/salut-a-z/c/cancer/recursos-per-a-professionals/estadistiques/sobre-el-cancer/>

3. Allott EH, Shan Y, Chen M, Sun X, Garcia-Recio S, Kirk EL, et al. Bimodal age distribution at diagnosis in breast cancer persists across molecular and genomic classifications. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2019;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s10549-019-05442-2>
4. Garrido-Castro AC, Lin NU, Polyak K. Insights into molecular classifications of triple-negative breast cancer: Improving patient selection for treatment. *Cancer Discov*. 2019;9(2):176–98.
5. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer [Internet]. 2010. Available from: <http://breast-cancer-research.com/content/12/5/R68>
6. Ballester Albau R, Cirauqui B, Dorca Ribugent J, Del Barco Berrón S, Falo Zamora C, Gil M, et al. ICOPraxis per al tractament mèdic i amb irradiació del càncer de mama. 2016.
7. Asano Y, Kashiwagi S, Goto W, Takada K, Takahashi K, Hatano T, et al. Prediction of survival after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer by evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes and residual cancer burden. *BMC Cancer*. 2017 Dec 28;17(1).
8. Kroemer G, Senovilla L, Galluzzi L, André F, Zitvogel L. Natural and therapy-induced immunosurveillance in breast cancer. Vol. 21, *Nature Medicine*. Nature

Publishing Group; 2015. p. 1128–38.

9. Mao Y, Qu Q, Zhang Y, Liu J, Chen X, Shen K. Erratum: The value of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) for predicting response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: A systematic review and meta-analysis (PLoS ONE (2014) 9:12 (e115103) DOI: 10.1371/journal.pone.0115103). Vol. 10, PLoS ONE. Public Library of Science; 2015.
10. Gil Del Alcazar CR, Huh SJ, Ekram MB, Trinh A, Liu LL, Beca F, et al. Immune escape in breast cancer during in situ to invasive carcinoma transition. *Cancer Discov.* 2017 Oct 1;7(10):1098–115.
11. Barrett MT, Anderson KS, Lenkiewicz E, Cunliffe HE, Klassen CL, Dueck AC, et al. PD-L2 is enriched in high-risk triple negative breast cancer. 2015;6(28):1–11.
12. Miller TW. Clinical potential of novel therapeutic targets in breast cancer : CDK4 / 6 , Src , JAK / STAT , PARP , HDAC , and PI3K / AKT / mTOR pathways. 2014;203–15.
13. Balko JM, Schwarz LJ, Luo N, Estrada M V., Giltane JM, Dávila-González D, et al. Erratum : Triple-negative breast cancers with amplification of JAK2 at the 9p24 locus demonstrate JAK2-specific dependence (Science Translational Medicine (2019) 11, 476, (eaaw6162), 10.1126/scitranslmed.aaw6162). *Sci Transl Med.* 2019;11(476):1–12.

14. Kim I, Sanchez K, McArthur HL, Page D. Immunotherapy in Triple-Negative Breast Cancer: Present and Future. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12609-019-00345-z>
15. Spellman A, Tang SC. Immunotherapy for breast cancer: past, present, and future. *Cancer Metastasis Rev* [Internet]. 2016;35(4):525–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10555-016-9654-9>
16. Esteva FJ, Hubbard-lucey VM, Tang J, Pusztai L. Personal View Immunotherapy and targeted therapy combinations in metastatic breast cancer. *Lancet Oncol* [Internet]. 2019;20(3):e175–86. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30026-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30026-9)
17. Stover DG, Gil CR, Alcazar D, Brock J, Guo H, Overmoyer B, et al. Phase II study of ruxolitinib , a selective JAK1 / 2 inhibitor , in patients with metastatic triple-negative breast cancer. 2018;(November 2017):1–9.
18. Shaughnessy JO, Demichele A, Ma CX, Richards P, Yardley DA, Shaw G, et al. CLINICAL TRIAL A randomized , double blind , phase 2 study of ruxolitinib or placebo in combination with capecitabine in patients with advanced HER2 negative breast cancer and elevated C reactive protein , a marker of systemic inflammation. 2018;547–57.
19. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valero V, et al. JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY Measurement of Residual Breast

- Cancer Burden to Predict Survival After Neoadjuvant Chemotherapy. 2020;25(28).
20. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019;30(8):1194–220.
 21. Moreno S. Recomendaciones del Club de patologia Mamaria de la SEAP. *Libro Blanco la Anatomía Patológica en España* [Internet]. 2015;(2):79–183. Available from: https://www.seap.es/c/document_library/get_file?uuid=88fb35e2-fb6d-4a74-bbda-5e125e7a60da&groupId=10157
 22. Zenonas Theodosiou, Ioannis N. Kasampalidis, George Livanos MZ, Pitas I. Automated Analysis of FISH and Immunohistochemistry Images: A Review. *Cytometry A*. 2007;71(1):8–15.
 23. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruner G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILS) in breast cancer: Recommendations by an International TILS Working Group 2014. *Ann Oncol* [Internet]. 2015;26(2):259–71. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu450>
 24. Mantripragada KK, Buckley PG, Diaz De Ståhl T, Dumanski JP. Genomic microarrays in the spotlight. *Trends Genet*. 2004;20(2):87–94.

25. Affymetrix. DataSheet: CytoScan® 750K Suite. Rev. 2.
26. Chen M, Pockaj B, Andreozzi M, Barrett MT, Krishna S, Eaton S, et al. JAK2 and PD-L1 Amplification Enhance the Dynamic Expression of PD-L1 in Triple-negative Breast Cancer. Clin Breast Cancer [Internet]. 2018;18(5):e1205–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clbc.2018.05.006>

Annexos:**Annex 1: Ful n " f ø K p h q t o c e k » " n c " R c e k g p v****HWNN " F ø K P H Q T O C P A K I E N T C " N C****V ~ V Q N " F G " N ø G U V W F K <**

Estudi de cohorts: Estudi de l'amplificació 9p24 en cèl·lules tumorals de càncer de mama triple negatiu com a predictor de mala resposta a la quimioteràpia neoadjuvant.

CODI DE N ø G U V W F K ~~Indeterminat~~**PROMOTOR:** Indeterminat**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Carmen Alcoverro Godoy**TELÈFON:** XXXXXXXXXX**CENTRE:** Hospital de la Santa Creu i Sant Pau**INTRODUCCIÓ**

Ens dirigim a vostè per informar-lo sobre un estudi al qual se'l convida a participar.

L'estudi ha estat aprovat pel Comitè Ètic d'Investigació Clínica corresponent.

La intenció és que vostè rebi la informació correcta i suficient per tal d'avaluar i jutjar si vol o no participar en aquest estudi. Els dubtes que poden sorgir-li podran resoldre's en el moment que consideri més oportú. A més, pot consultar-ho amb les persones que consideri oportú.

PARTICIPACIÓ VOLUNTÀRIA

Ha de saber que la seva participació en aquest estudi és voluntària i que pot decidir no participar o canviar la seva decisió i retirar el consentiment en qualsevol moment, sense que s'alteri la relació amb el seu metge ni es produeixi perjudici algun en el seu tractament.

F G U E T K R E K ~ " I G P G T C N " F G " N Ø G U V W F K

Se l'ha convidat a participar en aquest estudi observacional que es planteja amb l'objectiu d'establir si l'amplificació de la regió 24 del braç petit del cromosoma 9 s'associa a una pitjor resposta al tractament neoadjuvant.

Per aquest motiu les mostres de les seves biòpsies/mastectomia/tumorectomia seran analitzades en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i al centre MARGenòmics per realitzar estudis addicionals. La prova realitzada als seus teixits s'anomena microarray i serveix per detectar increments en el nombre de còpies dels gens a estudi. També es recolliran de la seva Història Clínica resultats de proves complementàries, el tractament farmacològic actual, patologia prèvia i la informació relativa al càncer de mama. S'espera incloure una mostra total aproximada de 184 individus durant un període de 13 mesos en total.

No serà precis sotmetre's a cap prova addicional més enllà de les incloses en el tractament del seu càncer de mama. La informació relativa a la presència o no de l'amplificació no li serà comunicada fins al final de l'estudi per evitar biaixos.

El tractament del seu càncer de mama es realitzarà en el seu centre de referència (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Hospital de Vall d'Hebron, Hospital Germans Trias i Pujol o Hospital Parc taulí). No serà necessària cap visita addicional més que les programades pel seu equip mèdic.

D G P G H K E K U " K " T K U E Q U " F G T K X C V U " F G " N C " U G X C " R C T V

És possible que no obtingui cap benefici de la seva participació, donat que l'amplificació esmentada, en el moment actual, no suposa un canvi en el tractament ni el seguiment de la seva patologia. No obstant, la recompensa de la informació que ens pugui proporcionar amb la seva participació pot ser rellevant per a la comunitat científica i futures pacients de càncer de mama triple negatiu.

És important que conegui que la participació en aquest estudi no comporta cap tipus de risc associat ni conseqüències per a la seva salut.

CONFIDENCIALITAT

El tractament, la comunicació i la cessió de les dades de caràcter personal de tots els subjectes participants s'ajustarà al disposat al Reglament (UE) núm. 2016/679 i a la Llei Orgànica 3/2018, de 5 de desembre de protecció de dades personals i garantia dels drets digitals.

Les dades recollides per a l'estudi estaran identificades amb un codi i només el seu metge de l'estudi/col·laboradors podran relacionar les dades amb vostè i la seva història clínica. D'aquesta manera, la seva identitat no serà revelada a cap persona, sota excepcions en cas d'urgència mèdica o requeriment legal.

L'accés a la seva informació personal quedarà restringit a l'investigador principal de l'estudi, col·laboradors, autoritats sanitàries, Comitè Ètic d'Investigació Clínica i personal autoritzat pel promotor, quan ho precisin, per a comprovar les dades i procediments de l'estudi, però sempre mantenint la confidencialitat dels mateixos d'acord amb la legislació vigent.

D'acord a l'establert per la legislació mencionada, vostè pot exercir els drets d'accés, modificació, oposició i cancel·lació de dades. A més pot limitar el tractament de dades que siguin incorrectes, sol·licitar una còpia o que es traslladin a un tercer (portabilitat) les dades que vostè ha facilitat per al estudi. Per exercir els seus drets dirigir-se a la investigadora principal de l'estudi. Tanmateix té dret a dirigir-se a l'Agència de Protecció de Dades si no queda satisfet/a.

Si vostè desitja retirar el consentiment per participar en aquest estudi, cap dada nova serà afegida a la base de dades. No obstant, ha de tenir en compte que les dades ja recollides

no es poden eliminar tot i que deixi de participar en l'estudi, per a garantir la validesa de la informació i complir amb els deures legals.

L'investigador i el promotor estan obligats a conservar les dades recollides per a l'estudi almenys fins cinc anys després de la seva finalització. Posteriorment, la seva informació personal només es conservarà pel centre per a la cura de la seva salut i pel promotor per altres fins d'investigació científica, si vostè hagués atorgat el seu consentiment per a fer-ho, o si així ho permeten la llei i els requisits ètics aplicables.

Si realitzéssim transferència de les seves dades codificades fora de la UE a les entitats del nostre grup, a prestadors de serveis o a investigadors científics que col·laborin amb nosaltres, les dades del participant quedaran protegits amb salvaguardes tals com contractes o altres mecanismes per les autoritats de protecció de dades. Si com a participant vol saber més al respecte, pot contactar amb l'investigador principal de l'estudi.

COMPENSACIÓ ECONÒMICA:

La seva participació a l'estudi no li suposarà cap despesa econòmica, de la mateixa manera, tampoc serà compensada econòmicament. Vostè no haurà de pagar pels procediments addicionals utilitzats en aquest estudi.

ALTRE INFORMACIÓ RELLEVANT:

Si vostè decideix retirar el consentiment per a participar en aquest estudi, cap dada nova serà afegida a la base de dades, podent exigir la destrucció de totes les mostres identificables prèviament retingudes per evitar la realització de nous anàlisis. En el supòsit que no decideixi participar a l'estudi haurà de continuar amb el seu seguiment habitual.

Al signat el consentiment adjuntat es compromet a complir els procediments de l'estudi que se li han exposat prèviament.

Si tinguéis algun dubte o desitja més informació pot contactar amb l'investigador principal de l'estudi.

Annex 2: Autorització Informada Sobre l a Gestió de Dades en Investigació Clínica

La Sra....., amb DNI

..... o, si escau, el tutor legal amb grau de parentiu

declaro que he estat informat i he entès que la realització d'aquest procediment és convenient des del punt de vista mèdic. He estat informat i he entès en què consisteix el procediment, l'objectiu que persegueix, les conseqüències de practicar-lo o no, les alternatives terapèutiques existents, els possibles riscos generals que es poden presentar i els possibles riscos personals derivats del meu estat de salut. He estat informat de la possibilitat que sorgeixi alguna situació inesperada que requereixi algun procediment addicional o diferent del previst inicialment i autoritzo l'equip mèdic a practicar els procediments que cregui necessaris.

Per tant, consento la pràctica d'aquest procediment amb les limitacions següents:

- ☐ Cap
- ☐

Autorització per a la cessió de dades amb finalitats de recerca oncològica:

Analitzant les dades personals referents a la salut del pacient oncològic (història clínica, proves, diagnòstic, evolució i efectivitat dels tractaments), els investigadors mèdics poden obtenir nous coneixements de gran valor per als tractaments oncològics. Per aquest motiu, i prèvia aplicació de mesures tècniques i organitzatives suficients que garanteixin la privacitat del pacient, com ara l'anonimització de les dades personals o altres, el pacient

atorga el consentiment per al tractament de les seves dades personals amb finalitats de recerca oncològica.

El tractament de dades del pacient amb finalitats de recerca oncològica es podrà portar a terme, si escau, incloent-hi, per exemple, el desenvolupament tecnològic i la demostració, la recerca fonamental, la recerca aplicada i la recerca finançada pel sector privat, aplicant-hi sempre les garanties adequades establertes per la normativa nacional. Aquest tractament NO estarà subjecte a decisions individuals automatitzades, però sí facilitarà coneixements sobre el futur de la malaltia, accions i tractaments mèdics, així com la presa de decisions mèdiques fonamentades en els resultats obtinguts.

- SÍ autoritzo el tractament de les meves dades personals amb les finalitats de recerca oncològica detallades.
- NO autoritzo el tractament de les meves dades personals amb les finalitats de recerca oncològica detallades.

Autorització per a fotografies i vídeos:

Normalment cal fer fotografies o vídeos, que formaran part de la seva història clínica, abans i després de la cirurgia, com també durant el seguiment de l'evolució del tractament, amb l'únic objectiu de documentar millor el cas per al control evolutiu i informar-lo de manera convenient.

- SÍ autoritzo que em facin fotografies o vídeos.
- No autoritzo que em facin fotografies o vídeos.

Signatura i segell del metge que
informa (nom, cognoms i núm.
de col·legiat)

Signatura i DNI del pacient

Signatura i DNI del tutor legal

Annex 3: Taula 1. Criteris d'exclusió

Taula 1: Criteris d'exclusió per la participació a l'estudi
<ol style="list-style-type: none"> 1. Evidència de malaltia metastàsica (M1 i/o N3+), càncer de mama inflamatori o càncer de mama invasiu bilateral concurrent 2. Pacients que en els darrers 5 anys hagin estat diagnosticades d'algun altre neoplàsia maligna, excloses el carcinoma escamós de pell tractat cirurgia curativa o un carcinoma cèrvix <i>in situ</i>. 3. Pacients que hagin rebut anteriorment tractament quimioteràpic, radioteràpia, immunoteràpia o teràpia estimuladora/inhibitòria de cèl·lules T en els darrers 12 mesos. 4. Pacients que pateixin un malaltia autoimmunatària que hagi requerit tractament sistèmic en els darrers 2 anys inclosa la corticoteràpia sistèmica. La teràpia de substitució com la tiroxina, insulina, cortisol fisiològic per compensar una insuficiència pituitària o malaltia adrenal etc., no seran considerats tractaments sistèmics. 5. Pacient amb diagnosticada d'alguna immunodeficiència primària o immunodeficiències secundàries (previ al tractament neoadjuvant) inclosa la infecció per VIH. 6. Infecció activa amb tractament sistèmic en el moment del diagnòstic i/o hagin estat vacunades amb virus atenuats en els darrers 2 mesos. 7. Història clínica o evidència de qualsevol condició, teràpia o anormalitats en els resultats de laboratori que puguin confondre els resultats de l'estudi o interferir en la participació completa de la pacient. 8. La pacient tingui un trastorn psiquiàtric conegut o història d'abús de substàncies que pugui interferir en els requeriments de seguiment de l'estudi. 9. Pacients que per intolerància als efectes secundaris o reaccions al·lèrgiques no hagin pogut completar el cicle complet de neoadjuvència. 10. Pacients que tinguin mutacions en línia germinal de BRCA1 i BRCA2. L'estudi genètic només és realitzarà en aquelles pacients que formin part de grups de risc segons les guies (14, 15): història familiar recurrent de CM, pancreàtic, ovari i/o alt grau/metàstasis en càncer de pròstata. Diagnòstic de CM abans dels 50 anys, diagnòstic de CMTN abans dels 60 anys i/o història personal de càncer d'ovari o CM en home.

Annex 4: Taula 2. Dades Basals de les Pacients. Anàlisi multivariant.

	9p24 <i>wild type</i> (n = 210)	9p24 <i>amplificat</i> (n = 105)	Odds Ratio (IC = 95%)	p
Edat				
Mitjana	X (X%)	X (X%)	X	X
Mediana	X (X%)	X (X%)	X	X
Moda	X (X%)	X (X%)	X	X
IMC				
<18	X (X%)	X (X%)	X	X
18-24.9	X (X%)	X (X%)	X	X
25-29.9	X (X%)	X (X%)	X	X
>30	X (X%)	X (X%)	X	X
Tabaquisme	X (X%)	X (X%)	X	X
Enol	X (X%)	X (X%)	X	X
Diabetis	X (X%)	X (X%)	X	X
Mida Tumoral				
T2	X (X%)	X (X%)	X	X
T3	X (X%)	X (X%)	X	X
T4	X (X%)	X (X%)	X	X
Ganglis				
N0	X (X%)	X (X%)	X	X
N1	X (X%)	X (X%)	X	X
N2	X (X%)	X (X%)	X	X
TILs+	X (X%)	X (X%)	X	X
FOXP3 +	X (X%)	X (X%)	X	X
CD4/CD8 >1	X (X%)	X (X%)	X	X
Ki67 ++	X (X%)	X (X%)	X	X
TILs negatius	X (X%)	X (X%)	X	X

Annex 5: Taula de Contingència

	pCR	RCB I, II o III	Total
9p24 wild type	X	X	X
9p24 amplificat	X	X	X
	X	X	X

Annex 6: Pressupost MARGenomics**Data: 09/04/2020****Nº pressupost: SCT_20_04_011****DADES DEL SOL·LICITANT**

Sol·licitant:	Carmen Alcoverro
Institució Sol·licitant:	Hospital de la Santa Creu i Sant Pau
Investigador principal:	
Institució Investigador Principal:	
Direcció de facturació:	
NIF/VAT:	
Descripció del servei:	Anàlisi microarrays

DADES INTERNES

Responsable centre de cost:	
Centre de cost on fer l'ingrés	
Institució/empresa:	Fundació IMIM

PRESSUPOST

Concepte	Preu/unitari	Nº mostres estimades	Preu Total
CytoScan 750K	321€	250	80250€

L'import a facturar estarà en relació al número real de mostres processades. Preus sense IVA

APROVACIÓ

Investigador Principal
Signatura
Nom:
Data:

Tarifes aprovades pel Patronat de la Fundació IMIM 4/12/2019

Annex 7: Llistat Revistes

1. Seminaris in Cancer Biology
2. Clinical Cancer Research
3. Trends in Cancer
4. Journal for ImmunoTherapy of Cancer
5. Cancer Immunology Research
6. Cancer Research
7. Journal of the National Comprehensive Cancer Network
8. European Journal of Cancer
9. Cancer and Metastasis Reviews
10. Oncogene